Über die

Wirkung der Verdauungsfermente auf die Antikörper speziell auf Agglutinine und Praecipitine.

Inaugural-Dissertation

verfasst und der

Hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayer. Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der Doktorwürde

vorgelegt von

Ernst Stark

aus

Regensburg.

ACAD. LUDOVIC. BIBL.

WÜRZBURG.

Buchdruckerei F. Staudenraus (vorm. Fleischmann).

1905.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg.

Referent:
Herr Geh. Rat Professor von Leube.

Meinen lieben Eltern

zur

Silbernen Hochzeit

in Danbarkeit gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41507206_0039

I. Teil.

Agglutinine.

Obwohl über Antikörper im Allgemeinen und über ihre Stellung zu den Eiweisskörpern im Besonderen schon sehr viel geschrieben wurde, und die geistreichsten Methoden ersonnen wurden, um diese Frage endgültig zu lösen, ist bis heute doch noch kein völlig befriedigendes Resultat erreicht worden.

Nicht einmal über die Frage: Sind die Antikörper überhaupt Eiweisskörper? — ist man absolut klar, wenn auch die bei weitem grösste Anzahl der Forscher daran festhält, dass die Antikörper, wie Asakawa (1) 1901 meinte, „modifizierte Serumglobuline" sind. Pick (2) hat durch die Methode der fraktionierten Fällung zu beweisen gesucht, dass die Immunkörper an eine bestimmte Ausfällungsfraktion z. B. an das Euglobulin des Serums geknüpft erscheinen.

Als erste haben Emmerich und Tsuboi (3) sich mit der Isolierung der Immunkörper beschäftigt und gefunden, dass die immunisierende Kraft an die Albumine des Serums gebunden sei; diese Angabe wurde aber durch neuere bessere Untersuchungen widerlegt, resp. dahin berichtigt, dass gewisse Immunkörper auch noch mit den Albuminen ausfallen.

Gegen die Auffassung der Immunkörper als Eiweissstoff wenden sich schon 1896 Pfeiffer und Proskauer (4), welche eine Beziehung der Immunkörper zu den Eiweissstoffen überhaupt nicht feststellen konnten, sowohl bei Benutzung der Aussalzungsmethode mit Magnesiumsulfat als auch bei Verdauungsversuchen. Dagegen konnten sie „durch Kombination der Dialyse mit langdauernder Einwirkung absoluten Alkohols aus dem gehärteten Niederschlag eine wasserlösliche Substanz extrahiren, die Eiweiss nur in Spuren, (Cholera-)Immunkörper aber in sehr grosser Menge enthielt."

Wolff, ein Schüler Pfeiffers, hält sich in seiner Arbeit „Über den Gehalt der einzelnen Eiweissfraktionen des Serums an Choleraimmunkörper" (5) darüber auf, dass die meisten Untersucher die Angaben Pfeiffers unbeachtet lassen. Wolff schildert seine ungemein sorgfältige Methode ausführlich und kommt dann auf Grund seiner Untersuchungsbefunde zu dem Schluss: „Es ist irrig anzunehmen, dass die Immunkörper an die Eiweisskörper des Serums, speziell an bestimmte Fraktionen desselben geknüpft seien. Die Immunkörper werden zum Teil bei der Ausfällung rein physikalisch-mechanisch mitgerissen, und zwar mit dem Fibrinoglobulinniederschlag ca. $^1/_5$, mit dem Euglobulin = plus Fibrinoglobulinniederschlag ca. $^3/_8$, mit dem Gesamtglobulin ca. die Hälfte des Gesamtgehaltes an Immunkörpern. Diese Mitreissung erfolgt also ziemlich proportional der Stärke des Niederschlages. Durch die Einhüllung in das schwer diffusible Eiweiss werden die Immunkörper vor der schädlichen Einwirkung des Ammoniumsulfats und anderer eventuell einwirkender Stoffe geschützt, welche die im Serumfiltrat zurückgebliebenen Immunkörper in relativ kurzer

Zeit vernichten und damit dem Nachweis entziehen, so dass es leicht den Anschein haben kann, als wären die gesamten im Serum vorhandenen Immunkörpersubstanzen in dem Niederschlage einer bestimmten Fraktion enthalten. Aber bei dem quantitativen Arbeiten, das die Choleraimmunkörper ermöglichen, weist das Fehlen von fast der Hälfte der ehedem vorhandenen Immunkörper mit Notwendigkeit darauf hin, dass das Ammonsulfat im Filtrat die Antikörper zerstört.“ Dann fährt er fort: „Wir haben somit bewiesen, dass die Immunkörper ganz ähnlich wie andere Enzyme beim Ausfällen von Eiweisssubstanzen rein mechanisch zu einem Teil mitgerissen werden, und im Niederschlag der schädlichen Einwirkung des zur Ausfällung verwendeten Mittels entzogen werden. Es folgt daraus die Irrigkeit der Schlussfolgerung, dass die Immunkörper Eiweisssubstanzen darstellen müssen, wenigstens fehlt bisher für diese Behauptung jede Spur eines Beweises, es sind auch nicht einmal Beziehungen der Immunkörper zu irgend einer Eiweissfraktion nachzuweisen.“ Ferner findet Wolff, dass im Globulinniederschlag nur etwa 30% der Antikörper, im Albuminniederschlag aber die bei weitem grössere Menge enthalten ist, und er fasst seine Ergebnisse am Schluss noch einmal zusammen und sagt:

„Die Natur der Immunkörper ist durch die bisherigen Untersuchungen nicht festgestellt; die bekannt gewordenen Tatsachen sprechen dafür, dass die Immunkörper enzymartige Stoffe sind und dass der Vorgang der Bakteriolyse am ehesten mit dem Verdauungsphänomen in eine gewisse Analogie zu setzen ist.“ etc.

Ungefähr gleichzeitig publizierte Fuhrmann (6) Versuche, deren Ergebnis wiederum war, dass die

wirksamen Substanzen in den beiden Globulinen enthalten sind, eine Angabe, die Funk (7) im Wesentlichen bestätigen konnte. Die Präcipitine*) seien hauptsächlich an das Euglobulin gebunden, die hämolytische Wirkung aber (des Rinderblutimmunserums vom Kaninchen) hafte am Eu- und Pseudoglobulin.

Wie wir eben gesehen haben, hat Wolff auch darauf aufmerksam gemacht, dass Ammonsulfat, das gewöhnlich zum Ausfällen benützt wird, eine schädigende Wirkung auf die Immunkörper hat. Ebenso sei auch Magnesiumsulfat schädlich [Pfeiffer und Proskauer (4)]. Wolff schlägt daher eine Kombination der Kohlensäure- und Aussalzungsmethode vor.

Einen wichtigen Einblick in die Eiweissnatur der Antikörper gestattet ihr Verhalten gegenüber den Verdauungsfermenten. Schon lange bevor die zuletzt zitierten Arbeiten erschienen, haben verschiedene Untersucher angefangen mit Hilfe von Digestionsmethoden zu arbeiten. Der erste Versuch über die Wirkung von Enzymen auf Bakterienantitoxine dürfte wohl der von Buchner (8) sein, welcher fand, dass sie sehr resistent gegen Enzyme seien.

Weitere derartige Versuche stammen von Dzierzgowski (9), der nachwies, dass das Diphtherieantitoxin durch Pepsinverdauung zerstört wird.

Dann hat sich E. Pick (10) eingehend damit beschäftigt, der mit Agglutininen arbeitete. Er benützte Typhus-Pferde-Immunserum und fand, dass einige Tropfen einer durch Soda stark alkalisch gemachten Trypsinlösung in einigen Kubikzentimeter Immunserum

*) Präcipitine haben Leblanc und Rostoski schon vor Picks Versuchen verdaut. Über Präcipitine siehe den 2. Teil der Arbeit.

nach 5 tägiger Verdauung im Brutschrank das Immunserum seiner agglutinirenden Wirkung beraubte.

Sodalösung allein, ohne Trypsin, vermochte in derselben Zeit das Immunserum nicht zu schwächen. Dagegen verlor Immunserum mit Salzsäure stark angesäuert in 3 Tagen seine Wirkung.

Die Eigenschaft der Agglutinine und Präcipitine scheinen hier auseinander zu gehen; denn Michaelis (21) fand, wie wir später sehen werden, dass die Präcipitine durch Salzsäure allein gar nicht angegriffen werden. Vielleicht liegt die Ursache dieser verschiedenen Resultate auch darin, dass jeder mit anderen Konzentrationen arbeitete. Ich möchte hier genau trennen und werde vorläufig nur von den Agglutininen reden; alles was auf die Verdauung von Präcipitinen Bezug hat, ist im 2. Teil der Arbeit besprochen.

Das gleiche Resultat wie die mit Salzsäure behandelte, liefert die mit Pepsin plus Salzsäure verdaute Probe nach 5 tägiger Digestion im Brutschrank. Auch hier war die Fähigkeit, Niederschlag zu bilden, vollständig vernichtet worden.

Ein Teil dieser Wirkung dürfte, wie Pick meint, auf die Einwirkung der Salzsäure zurückzuführen sein, deren schädigenden Einfluss wir oben kennen gelernt haben.

Pick untersuchte dann auch noch die Wirkung von Ammoniak, Methylamin, Trimethylamin und Hydroxylamin auf die Agglutinine (9 pag. 449).

Diese Versuche wurden meines Wissens von niemand nachgeprüft. In dem grossen „Handbuch der pathogenen Mikroorganismen“ (11) ist nur mit wenig Worten auf Picks Arbeit hingewiesen. Es heisst da (pag. 735):

Den Verdauungsfermenten Pepsin, Trypsin und Papayotin widersteht das Agglutinin bei 24 stündiger Einwirkung [Winterberg (12)] während durch eine

längere Trypsinverdauung (Pick) dieselbe bedeutend abnimmt, durch 5tägige Trypsinverdauung vollständig vernichtet wird" u. s. w.

Da Picks Versuche aber nur qualitativ gemacht wurden, so gestatten sie keinen präzisen Vergleich zwischen der Intensität resp. Schnelligkeit der Wirkung der einzelnen Agentien und Verdauungsflüssigkeiten auf das Agglutininserum. Aus diesem Grunde wurden von mir auf Anregung und unter Mithilfe von Herrn Dr. Rostoski einige Versuche gemacht, die die Abnahme des Titers des Immunserums zeigen sollen, wenn es peptisch und tryptisch verdaut wird. Zugleich wurde jedesmal bestimmt, wie weit die Verdauung des Eiweissmoleküls gegangen war.

I. Versuch.

Einem gegen Typhus immunisierten Kaninchens wurden 60 ccm Blut entzogen, von welchem am nächsten Tag 35 ccm Serum abgenommen werden konnten.

Mit einer eigens dafür angelegten Typhuskultur (Bouillon) wurde die Agglutinationskraft des Serums mikroskopisch geprüft. Es wirkte folgendermassen:

1 : 1000 1 : 2000	alles agglutinirt
1 : 2000 1 : 4000	stark positiv
1 : 6000 1 : 12000	deutlich positiv.

Gleichzeitig wurde die Probe auch makroskopisch mit Fickers Typhusdiagnostikum und einer 5 Wochen alten, durch Formol abgetöteten Typhuskultur gemacht um die Sicherheit der einfacheren makroskopischen Untersuchung zu prüfen.

In beiden Fällen war das Resultat:

1 : 1000 }
1 : 2000 } stark positiv
1 : 4000 }
1 : 6000 deutlich
1 : 12000 nichts mehr zu sehen.

Dieser Unterschied des Ergebnisses der makroskopischen und mikroskopischen Untersuchung beweist, dass man sich stets nur einer der beiden Methoden, deren jede für sich Vorzügliches leistet, bedienen darf.

Die Serumverdünnungen wurden, soweit die Verdünnungen stark waren, so hergestellt, dass $^1/_{10}$ ccm Immunserum mit 50 ccm physiologischer (0,85%) Kochsalzlösung vermischt wurden, wodurch eine Verdünnung von 1 : 500 entstand, welche dann weiter mit 0,85% Kochsalzlösung verdünnt wurde.

Bei den mit Magensaft auf 1 : 4, 1 : 8 und 1 : 16 vorverdünnten Gemischen wurden natürlich die schon bestehenden Verdünnungen gebührend berücksichtigt.

Das Ficker'sche Diagnostikum, mit dem in der Folge gearbeitet wurde, wurde stets so angewandt, dass zu 1 ccm Serumverdünnung, z. B. 1 : 500, ein ccm Diagnostikum hinzugefügt, also die Verdünnung auf 1 : 1000 gebracht wurde. Diese Verdünnungen blieben dann stets über Nacht, also 16—18 Stunden im Brutschrank bei 37° stehen. Die ersten Anzeichen traten auch bei starken Serumkonzentrationen erst nach ca. 12 Stunden Ruhe im Brutschrank auf und wurden, wie sorgfältige Kontrollen zeigten, auch bei mehrtägigem Stehen nicht stärker als sie nach 18 Stunden gewesen waren; vor allem ist die zu gleichen Teilen aus physiologischer Kochsalzlösung und Diagnostikum bestehende Kontrolle während mehrerer Wochen hindurch niemals flockig geworden.

Nachdem der Titer des unverdauten Serums bekannt war, wurden 30 ccm davon mit den gleichen Volumen künstlichen Magensaftes versetzt und zur Digerirung in den Brutschrank gebracht.

Der künstliche Magensaft wurde nach Salkowskys (13) Angaben hergestellt; aber da sich in Vorversuchen gezeigt hatte, dass der Gehalt an freier Säure dabei schon in kurzer Zeit zu gegering wird, resp. letztere ganz verschwindet, wurde die doppelte Menge Salzsäure und Pepsin genommen: also auf 300 ccm Wasser 1,2 g Pepsin und 6 ccm Salzsäure, so dass das Gemisch schliesslich doch 1 % Salzsäure enthielt.

Nach 6 stündiger Verdauung im Brutschrank war der Titer des Serums um die Hälfte gesunken: das Serum agglutinierte bei:

1 : 500 } stark
1 : 1000 }
1 : 2000 deutlich
1 : 3000 ziemlich schwach
1 : 4000 in Spuren
1 : 6000 nicht mehr.

Nach $9^1/_2$ Stunden wurde nachgesehen und jetzt war die Agglutination bei

1 : 300 } stark
1 : 600 }
1 : 700 ziemlich stark
1 : 800 deutlich
1 : 1000 } 0.
1 : 2000 }

Diese rasche Abnahme des Titers entspricht nicht den Erfahrungen, die Winterberg (12) gemacht hat. Er fand, dass Agglutinine den Verdauungsfermenten Pepsin, Trypsin Papayotin 24 Stunden widersteht und erst nach 5 Tagen verschwindet. Unser Versuch zeigt schon nach 15 Stunden den Titer auf $^1/_{12}$ des ursprüng-

lichen gesunken. Das Serum agglutinirte jetzt noch bis

1 : 300 stark
1 : 400 deutlich
1 : 500 schwach
1 : 1000 —

Da immer noch coagulables Eiweiss in ziemlicher Menge in der Verdauungsflüssigkeit enthalten war, so musste man daran denken, ob nicht die Agglutination etwa mit dem coagulablen Eiweiss verschwinde. Es wurde daher beschlossen, so lange weiter zu verdauen bis kein coagulables Eiweiss mehr nachgewiesen werden könnte, und dann erst wieder auf Agglutination zu prüfen.

Zu diesem Zweck wurde alle fünf Stunden auf coagulables Eiweiss untersucht. Bei 40 Stunden Verdauung waren nur mehr Spuren vorhanden, nach 45 Stunden war bei der Kochprobe keinerlei Trübung mehr zu sehen.

Nach einigen (4—6) Stunden trat allerdings ein geringer flockiger Niederschlag auf, der aber nicht als primäres coagulables Eiweiss angesehen werden kann.

Hier ist zu erwähnen, dass nach den 15 Stunden Verdauung 30 ccm der Verdauungsflüssigkeit, die bisher die Hälfte ihres Volumens an Serum enthielt mit künstlichem Magensaft auf 1 : 4 und nach 33 Stunden auf 1 : 8 verdünnt wurde, um die Verdauung bei gleichem prozentualen Säure- und Pepsingehalt möglichst zu beschleunigen.

Nachdem also nach 45 Stunden das coagulable Eiweiss vollständig verschwunden war, hätte auch die Agglutination verschwunden sein müssen, wenn Asakawa (1) und die anderen, die mit ihm glauben, dass das Agglutinin nichts weiter als ein modifiziertes Serum-

globulin ist, recht hätten. So aber wirkte das Serum nach 45 Stunden noch bei

1 : 160 stark
1 : 320 } deutlich
1 : 400 }
1 : 640 nicht mehr.

Es hatte in den letzten 30 Stunden also auffallend wenig an seiner Wirkung eingebüsst. (Siehe die Kurve am Schluss des I. Teiles.)

Um nun zu sehen, wie lange sich die Agglutination überhaupt noch erhält, wurde das Gemisch weiterverdaut.

Nach 51 Stunden hatte man bei

1 : 120 starke
1 : 240 deutliche
1 : 320 ziemlich schwache

Agglutination.

Nach 57 Stunden war sie weiter gesunken und wirkte bei

1 : 160 stark
1 : 240 nur mehr gering.

Nach 60 Stunden wurde die Verdauungsflüssigkeit (deren Serumgehalt jetzt noch $^1/_8$ ihres Volumens war) durch Verdünnung mit Magensaft auf $^1/_{16}$ gebracht und dann nach 65 Stunden wieder untersucht. Dabei war die Wirkung:

1 : 64 stark
1 : 128 deutlich
1 : 256 —

Nach 71 Stunden

1 : 64 deutlich
1 : 128 —

Nach 79 Stunden bei

1 : 64 } keine Agglutination mehr.
und 1 : 32 }

Geringere Verdünnungen konnten nicht hergestellt werden, da das Serum ja selbst schon auf 1 : 16 mit Magensaft verdünnt war.

Die Agglutinationsfähigkeit muss also in unserem Fall — bei Anwendung ziemlich reichlicher Pepsinmengen — nach etwa 80 Stunden als erloschen betrachtet werden.

Nach 65 Stunden, als der Titer noch 1 : 128 war, und ganz gewiss kein coagulables Eiweiss mehr im Serum existirte, wurde der grösste Teil des Verdauungsgemisches nach Picks Methode, wie sie in Hoppe-Seyler-Thierfelder (14) angegeben ist, durch fraktionirte Fällung zerlegt.

Globuline, Albumine und primäre Albumosen fehlten. Sekundäre waren vorhanden, und zwar Deutero-Albumose A und Deut. Alb. B. Nicht nachzuweisen war Deutero-Albumose C. Pepton A war ebenfalls vorhanden.

Wir sehen also hieraus, dass die Verdauung des Eiweissmoleküls schon ziemlich weit vorgeschritten war.

Die Filter, auf denen sich die Niederschläge der beiden Deutero-Albumosen und des Peptons befanden, wurden mit je 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Die Waschwasser wurden wieder filtriert und dann mikroskopisch und makroskopisch auf ihre Agglutinationsfähigkeit geprüft. Bei keiner der Probe fand man mehr Agglutination.

Wenn wir also in diesem Fall die Antikörper in den einzelnen Funktionen nicht wiederfinden konnten, so liegt das jedenfalls daran, dass die Antikörper durch

die ausfällenden Substanzen (Säuren, Ammonsulfat und Jod-Jod-Kali) vernichtet worden sind.

Um endlich zu sehen, wie weit die Verdauung der Eiweisskörper gegangen ist, wenn die Agglutinationskraft des Serums vollständig erloschen ist, wurde auch nach 79 Stunden, also zu einer Zeit, wo keinerlei Wirkung mehr konstatiert werden konnte, das Serum auf seinen Albumosen- und Peptongehalt geprüft. Dabei zeigte sich, dass Albumosen zwar noch vorhanden waren, aber an Menge entschieden abgenommen hatten. Der Peptonniederschlag dagegen war etwas reichlicher geworden.

Aus diesem Versuch geht also hervor, dass Agglutination noch besteht, wenn keine Globuline und Albumine mehr vorhanden sind, sondern nur mehr Deuteralbumosen und Peptone. Und so muss man annehmen, dass die Agglutinine an Eiweisskörpern verschiedener Fraktionen haften können, an den einen, den Globulinen, leichter als an den anderen z. B. den Peptonen; dass sie also die Fähigkeit besitzen, bis zu einer bestimmten Kleinheit des Eiweissmoleküls an den verschiedenen Eiweisskörpern zu haften und deren Metamorphosen auszuhalten.

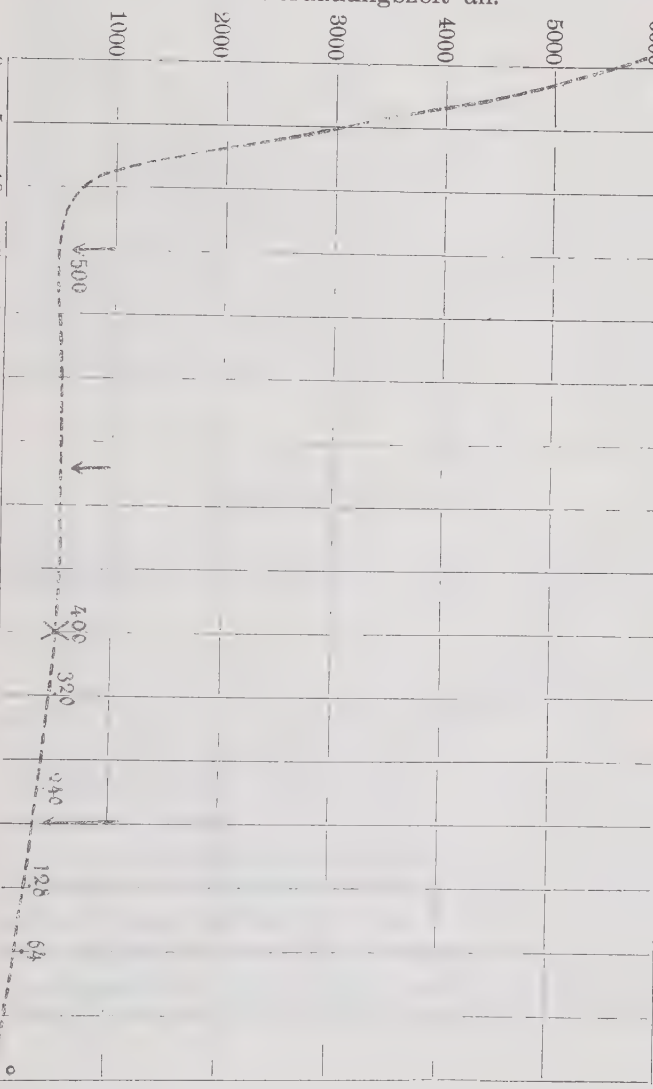
Die Widerstandskraft der Agglutinine gegen Pepsin ist also trotz der anfangs raschen Titerabnahme, immerhin noch eine ziemlich bedeutende. Auf ihre hohe Resistenz gegen Temperaturerhöhungen hat Pick (10) schon aufmerksam gemacht, während Nicolle (15) schon 1898 gezeigt hat, dass die agglutinable Substanz gegen Trypsin sehr resistent ist.

Da eine graphische Darstellung immer deutlicher spricht wie ein geschriebenes Wort, habe ich hier, um

die Eigentümlichkeit der Abnahme der Agglutination zu zeigen, eine Verdauungskurve unseres Versuches gezeichnet. Die horizontalen Linien geben den Titer, die vertikalen die Verdauungszeit an.

Pepsin-Verdauungskurve.

Die Pfeile bedeuten die Zeiten, an denen das Serum mit Magensaft weiter verdünnt wurde.



* Hier ist das coagulable Eiweiss verschwunden.

Die Kurve zeigt also 3 Hauptteile; einen ersten, rasch abfallenden, einen fast horizontalen, und einen mässig geneigten Teil. Das Auffälligste daran ist, dass die Verdauung gerade am Anfang mit relativ wenig Salzsäure und Pepsin so rasch vor sich ging, während sie später bei grossen Pepsin- und Salzsäuremengen nur langsam fortschritt. Derselbe Magensaft, der in den ersten 15 Stunden den Titer des Serums auf $^1/_{12}$ der ursprünglichen herabgesetzt hat, zeigte zwischen der 15. und 45. Stunde, also innerhalb 30 Stunden kaum eine Wirkung, um aber dann wieder in gleichmässig, bis zur völligen Reaktionslosigkeit abfallender Kurve die agglutinirende Wirkung des Immunserums zu zerstören. Was diesen horizontalen Teil der Kurve veranlasst hat, habe ich nicht finden können.

Trypsin-Verdauung.

Rostoski (16) hat die Beobachtung mitgeteilt, dass Präcipitine durch 48 stündige Trypsinverdauung nicht angegriffen würden.

Michaelis und Oppenheimer kamen nicht ganz zu demselben Resultat. Siehe 2. Teil.

Was die Trypsinverdauung des Agglutinins betrifft, so gehen hier die Ansichten ebenfalls auseinander. Picks Angaben über Trypsinverdauung seines Typhus-Pferde-Immunserums geben ebensowenig wie die über seine Pepsinverdauungsversuche genauere quantitative Angaben, da sie nur nach 24 Stunden und 5 Tagen kontrolliert sind; sie sind also wenig brauchbar. Deshalb haben wir es für gut befunden, auch diesen Versuch in etwas andrer Weise, in quantitativer Form zu wiederholen.

II. Versuch.

Durch Blutentziehung aus der Ohrvene eines gegen Typhus immunisirten Kaninchens wurden einige Kubikcentimeter Serum gewonnen, das bis

1 : 10000 stark
1 : 15000 deutlich
1 : 20000 noch sichtbar wirkte.

Zur Herstellung der Verdünnungen wurde natürlich wieder physiologische Kochsalzlösung benützt, aber an Stelle des Ficker'schen Typhus-Diagnostikums bediente ich mich einer von Herrn Dr. Rostoski vor 6 Wochen durch einstündiges Erwärmen auf 60° abgetöteten und durch Zusatz von 0,5% Phenol konservierten Typhuskultur.

Ein Versuch sollte zeigen, ob Trypsin allein, ohne vorhergegangene gastrische Verdauung, im Stande ist, die agglutinirende Substanz zu schädigen. Zu diesem Zweck wurden 0,6 ccm Immunserum mit 0,6 ccm einer schwach alkalischen 2% Trypsinlösung gemischt. Die Mischung kam mit 1 Tröpfchen Chloroform in den Brutschrank und wurde dann von Zeit zu Zeit untersucht.

Nach 3 Stunden keine Abnahme der Agglutination.

Nach 6 Stunden auch keine.
Nach 23 Stunden ebenfalls noch nicht.
Nach 45 Stunden aber:

1 : 5000 } stark
1 : 10000 }
1 : 15000 deutlich
1 : 20000 zweifelhaft.

Es ist demnach eine geringe Abnahme zu verzeichnen.

Nach 72 Stunden bei

1 : 5000 } stark
1 : 10000 }
1 : 15000 deutlich
1 : 20000 —

Die Abnahme ist also bedeutender geworden und schritt nach 96stündiger Verdauung noch mehr fort:

Nach 96 Stunden:

1 : 5000 } stark
1 : 10000 }
1 : 12000 gering.

Nach 120 Stunden (also 5 Tagen)

1 : 1000 } stark
1 : 5000 }
1 : 10000 deutlich
1 : 15000 Spuren.

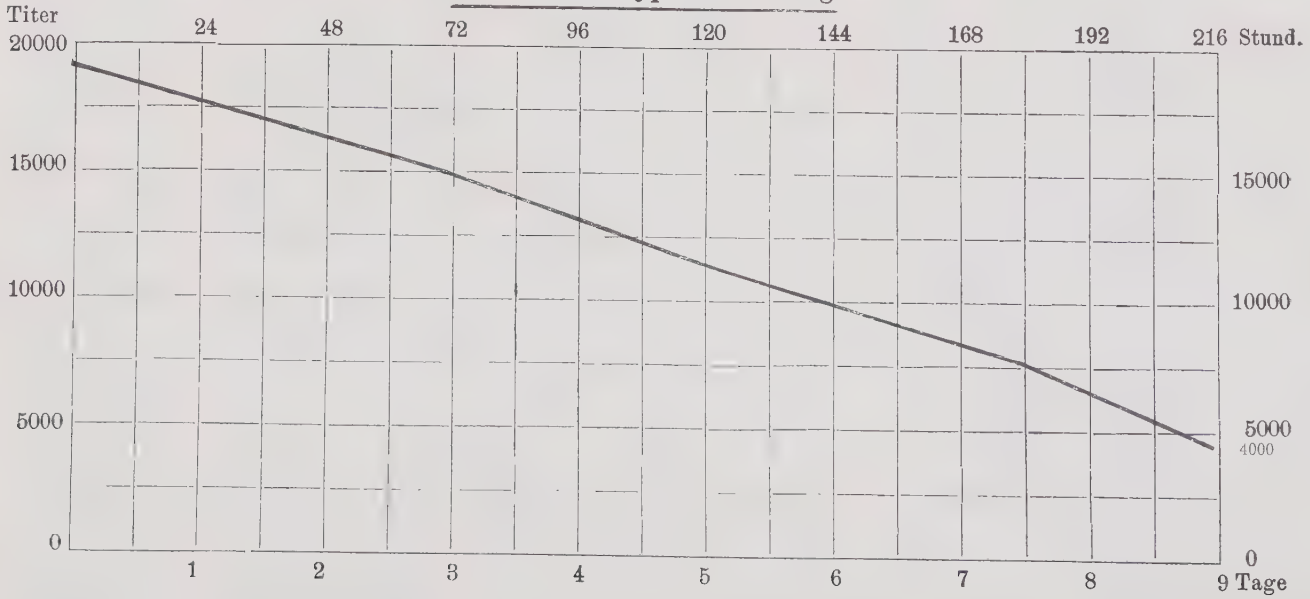
Nach 144 Stunden (6 Tagen)

1 : 1000 sehr stark
1 : 5000 stark
1 : 10000 deutlich.
1 : 15000 —

Es ist somit sicher gestellt, dass auch kleinere Trypsinmengen bei langdauernder Einwirkung einen schwächenden Einfluss auf das Agglutinin besitzen. Freilich ist diese Wirkung gar nicht zu vergleichen mit der des Pepsins und die Titerabnahme ist langsam und gleichmässig.

Nachdem Gürber und Ring (18) nachgewiesen haben, dass das Globulinmolekül gegen die Trypsinverdauung resistent ist, so scheint dieser Befund für die Globulinnatur der Antikörper zu sprechen.

Kurve der Trypsinverdauung.



Um nun zu sehen, ob Trypsin nicht im Stande ist, Agglutinin, das peptisch angedaut ist, in einer an Schnelligkeit der peptischen Verdauung ähnlichen Weise weiterzuverdauen, wurde folgender Versuch gemacht.

III. Versuch.

Von dem nämlichen Serum, das zu den peptischen Verdauungsversuchen benützt wurde, wurden nach 15 Stunden Pepsinverdauung, als das Serum bei 1 : 400 noch deutlich agglutinirte, 30 ccm abgenommen, schwach alkalisch gemacht und mit etwas Trypsin (einer kleinen Messerspitze voll) versetzt, so dass das Gemisch annähernd 1,5% Trypsin enthielt.

Der Prozentsatz des Alkali wurde nur aproximativ festgestellt; er war sehr gering und sicher nicht mehr als 0,2%.

Mit einem Tropfen Chloroform kam das Gemenge in den Brutschrank.

Nachdem das Trypsin einige Zeit eingewirkt hatte, wurde der Titer des Serums festgestellt.

Nach 3 Stunden:

1 : 120 stark
1 : 240 } deutlich.
1 : 320 }
1 : 480 —

Er hatte also abgenommen:

Nach 9 Stunden (+ 15 pept.)

1 : 120 stark
1 : 240 deutlich
1 : 320 nur mehr schwach
1 : 400 —

Als Grenze ist hier 1 : 240 anzunehmen. Wenn wir vergleichen wie viele Stunden peptischer Verdauung allein nötig waren, um das Serum bis auf

1 : 240 zu schwächen, so finden wir 45 Stunden, während wir hier im Ganzen nur 24 Stunden, (15 pept. und 9 tryptisch) brauchten.

Das Trypsin hat also mehr als doppelt so schnell weiter verdaut wie der Magensaft.

Damit dürfte zugleich bewiesen sein, dass die Zerstörung der Agglutinine durch die Verdauung nicht auf Rechnung der Salzsäure des Magensaftes zu setzen ist, sondern dass es sich um eine regelrechte Verdauung, wie sie im Körper durch den natürlichen Magensaft besorgt wird — also um eine Kombination der Wirkung von Säure und Pepsin handelt.

Der Versuch wurde bis zum völligen Aufhören der Agglutination fortgesetzt.

Nach 15 Stunden peptischer und 15 Stunden tryptischer Verdauung betrug der Titer nur mehr 1 : 160 also nach im ganzen 30 Stunden Verdauung nur mehr ebensoviel als bei Magensaftverdauung nach 57 Stunden.

Nach 15 Stunden pept. und 23 Stunden tryptischer Verdauung war bei 1 : 64 nur mehr eine ganz schwache Wirkung wahrzunehmen, so dass man die Antikörper als unwirksam gemacht ansehen musste.

Das Ergebnis der beiden Versuche mit Trypsin ist demnach:

2% Trypsinlösung allein ist nicht im Stande in gleicher Weise wie Pepsin-Salzsäure die Agglutinine anzugreifen; wirkt es aber auf bereits peptisch angedautes Serum, so werden die Agglutinine schneller unwirksam, als wenn sie mit Magensaft weiter verdaut würden.

Einen ähnlichen Versuch mit Präcipitinserum haben Oppenheimer und Aron (17) gemacht. Sie kamen zu dem ganz gleichen Resultat. Nach der Beschreibung des Versuches sagen die Verfasser (Siehe S. 289 der cit. Schrift):

„Dieser Versuch zeigt, dass schon nach einer schwachen Pepsinverdauung auch das noch coagulierbar gebliebene Eiweiss durch Trypsin in kurzem erheblich leichter seiner Coagulierbarkeit beraubt wird als natives Eiweiss."

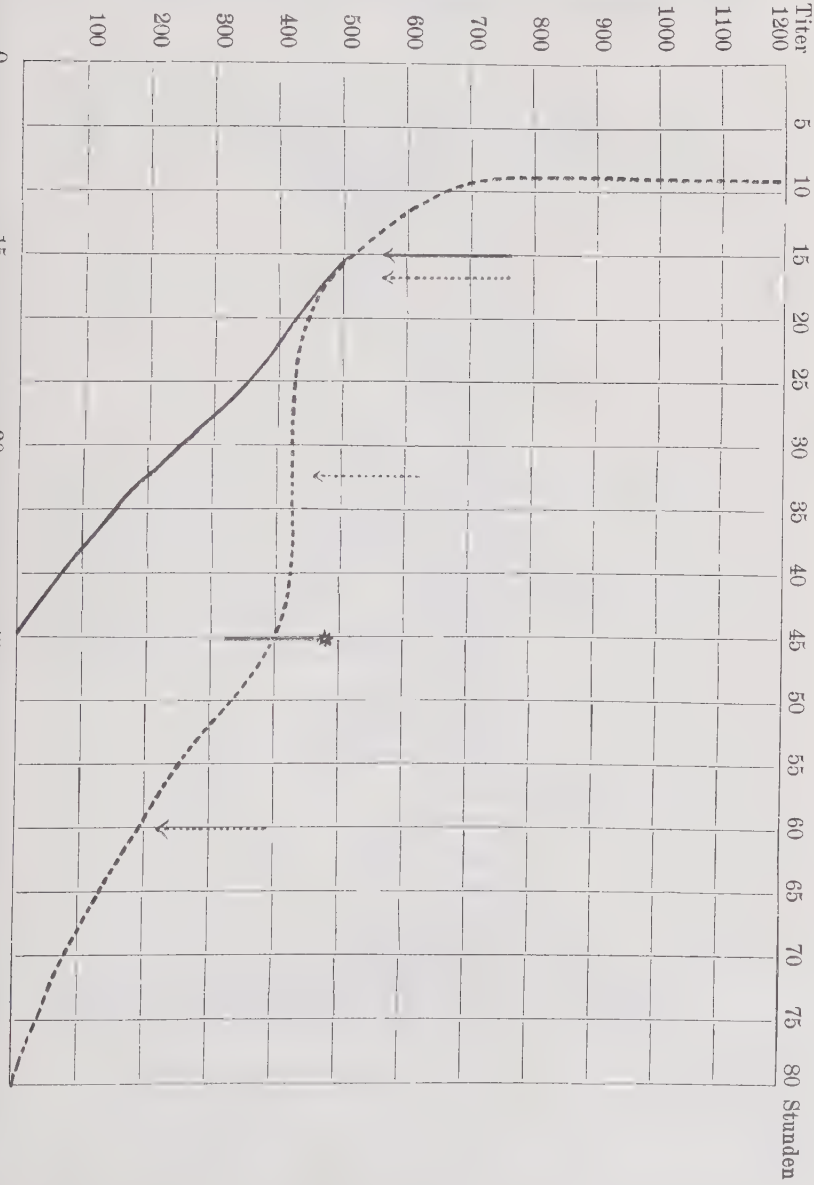
Um das Charakteristische dieses Vorganges zu zeigen, habe ich in die Kurve der Pepsin-Trypsin-Verdauung auch noch die der einfach peptischen eingezeichnet.

Der gleichmässig abfallende, steile Teil der gastrischen Kurve (vom Titer 6000—1200) herunter ist der Platzersparnis wegen hier weggelassen.

Das Trypsin setzte, nachdem Pepsin vorher 15 Stunden intensiv gewirkt hatte, die Verdauung energisch fort und zwar in einer der Pepsinkurve von der 45. Stunde (Pepsin-Verdauung) an nahezu parallelen Kurve. Sie hat lediglich den fast horizontalen Teil der Pepsinkurve ausgeschaltet.

Pepsin- } Kurve.
Trypsin- }

Die punktierten Pfeile deuten den Zusatz frischen Magensaftes an, der fette bezeichnet den Beginn der Trypsinverdauung. Der ✱——— markiert den Zeitpunkt, an welchem das coagulable Eiweiss fort war.



Papayotin-Versuch.

In der gleichen Weise wie mit Pepsin und Trypsin wurde nun auch mit Papayotin ein Verdauungsversuch gemacht. Es wurde dazu dasselbe Serum wie zum Trypsinversuch benützt.

IV. Versuch.

Die Papayotinlösung war 2% und mit einem Tropfen verdünnter Soda ganz schwach alkalisch gemacht. Das Ergebnis war folgendes:

Nach 6 Stunden Verdauung:

1 : 1000 stark
1 : 5000 deutlich
1 : 10000 sehr gering
1 : 15000 —

Nach 24 Stunden

1 : 100 }
1 : 400 } stark
1 : 1000 }
1 : 2000 deutlich
1 : 4000 schwach.

Nach 48 Stunden

1 : 100 }
1 : 400 } stark
1 : 800 }
1 : 1600 deutlich
1 : 3200 schwach.

Nach 72 Stunden

1 : 100 }
1 : 400 } stark
1 : 800 }
1 : 1600 deutlich
1 : 3200 Spuren.

Abnahme in den letzten 24 Stunden demnach sehr gering.

Nach 96 Stunden

1 : 100 } stark
1 : 400 }
1 : 800 deutlich
1 : 1600 schwach
1 : 3200 —

Nach 120 Stunden

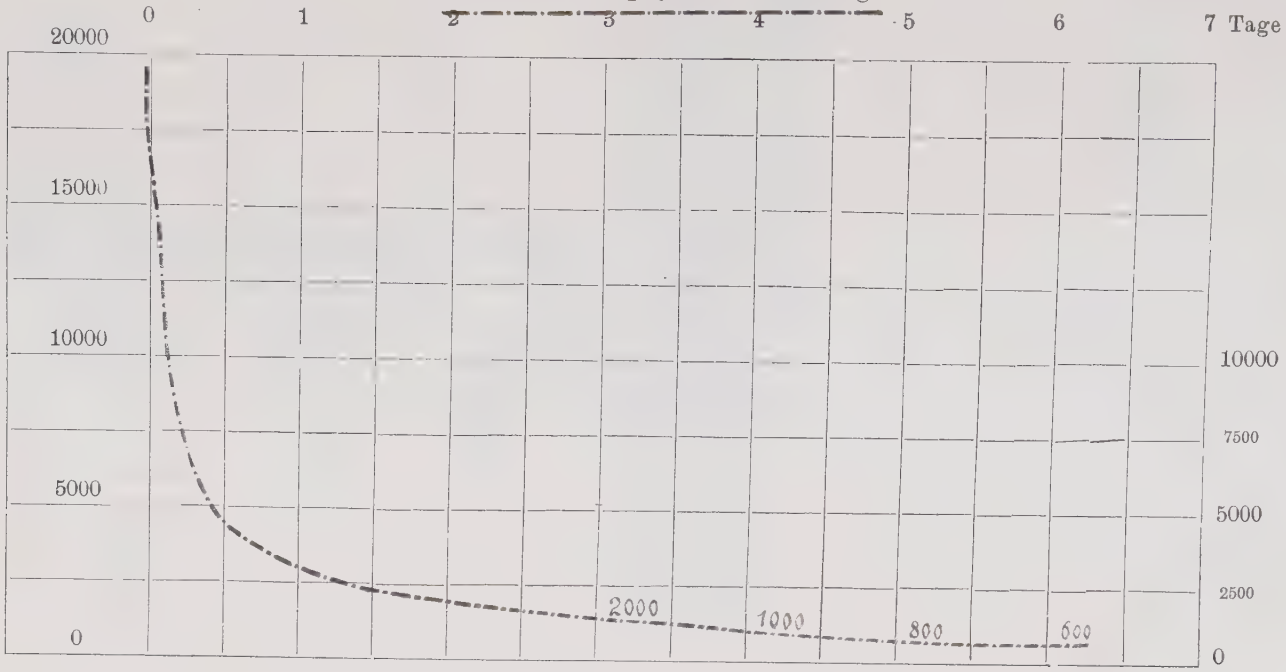
1 : 100 } stark
1 : 200 }
1 : 400 ziemlich stark
1 : 800 deutlich
1 : 1600 —

Nach 144 Stunden

1 : 100 } ziemlich stark
1 : 200 }
1 : 400 deutlich
1 : 800 schwach.

Nebenher wurde auch immer auf coagulables Eiweiss untersucht und dabei stellte sich heraus, dass die Hauptmasse desselben zwar nach etwa 65 Stunden verschwunden ist, dass sich aber immer wieder, sogar noch nach 6tägiger Verdauung kleine Mengen coagulablen Eiweisses finden.

Kurve der Papayotin-Verdauung.



Aus dieser Kurve und dem langsamen unvollständigen Verschwinden des coagulablen Eiweisses geht hervor, dass die Wirkung des Papayotins in der Mitte steht zwischen der des Pepsins und Trypsins. Wir haben den raschen Abfall des Titers am Anfang der Verdünnung, wie er durch Pepsin erzeugt wird, und beobachten dann die allmähliche gleichmässige Abnahme der Agglutination, wie sie der Trypsinverdauung charakteristisch ist.

Während das coagulable Eiweiss durch Pepsin in etwa 45 Stunden zerstört wird, mit Trypsin mehrere Tage lang keine merkliche Abnahme zeigt, wird es durch Papayotin zwar stark vermindert, bleibt aber in geringen Mengen noch sehr lange nachweisbar.

Säuren- und Laugenwirkung.

V. Versuch.

Die nun folgende Versuchsreihe soll kurz darlegen, welchen Einfluss Laugen- und Säurewirkung auf die agglutinirende Kraft eines Serums haben, um mit Sicherheit feststellen zu können, ob die Säuren- und Laugenmengen, die in den angewandten Verdauungsgemischen enthalten waren, eine den Titer herabsetzende Wirkung auf das Serum haben.

Je 0,5 ccm Serum (dem nämlichen wie bei den 2 vorigen Versuchen) wurde mit der gleichen Menge chem. Agens versetzt und zwar:

Die 1. Probe mit 2% Salzsäurelösung
„ 2. „ „ 5% „
„ 3. „ „ 2½% Natronlauge.

Um Missverständnisse zu vermeiden, sei hier erwähnt, dass sich „2% und 5% Salzsäure“ auf die sogenannte konzentrirte

(also auf die in Wirklichkeit 25 %) Salzsäure bezieht, so dass die 2% resp. 5%igen Lösungen tatsächlich nur 0,5 und 1,25% Salzsäure enthielten. Auch bei den Pepsinversuchen bezieht sich die Prozentangabe der HCl auf die konzentrirte Säure.

Die Laugenlösung dagegen enthielt wirklich 2 1/2% NaOH.)

Die 3 Proben kamen in den Brutschrank und wurden in gewissen Zwischenräumen auf ihre Wirkung geprüft. Das Ergebnis war:

6 Stunden mit 2% HCl

1 : 1000 } sehr stark
1 : 5000 }
1 : 1000 stark
1 : 15000 deutlich
1 : 20000 Spuren.

Nach 24 Stunden

1 : 1000 }
1 : 5000 } stark
1 : 10000 }
1 : 15000 deutlich
1 : 20000 Spuren?

Demnach ist die Einwirkung der 2% Salzsäure auf die Agglutinine eine äusserst geringe und eine Titerabnahme selbst nach 24 Stunden Einwirkung nicht mit Sicherheit zu konstatiren.

Deutlich schwächend wirkt dagegen schon die 5% HCl:

Nach 6 Stunden

1 : 100 } sehr stark
1 : 1000 }
1 : 2000 } stark
1 : 4000 }
1 : 10000 —

Nach 24 Stunden

1 : 1000 } stark
1 : 2000 }

1 : 4000 deutlich
1 : 8000 —

Obwohl die Konzentration der Salzsäure hier mehr als das Doppelte betrug als in dem gastrischen Verdauungssafte, war der Titer in 24 Stunden doch nur auf $^1/_5$ des ursprünglichen gesunken, während er bereits nach 15 Stunden gastrischer Verdauung auf ein $^1/_{12}$ heruntergedrückt war, ein weiterer klarer Beweis dafür, dass der starke Einfluss des Magensaftes auf eine Kombination der Salzsäure- nnd Pepsin-Wirkung zurückzuführen ist.

Die 3. Probe ergab, dass Natronlauge in noch mässiger Konzentration und in relativ geringer Zeit die Agglutinine völlig vernichtet. Es zeigte sich nämlich:

Nach 6 Stunden
bei 1 : 100 —
1 : 1000 —
1 : 2000 —

Es bestand also keine Spur einer Agglutination mehr.

II. Teil.

Präcipitine.

Mehr als über die Verdauung von Agglutininen wurde über die Verdauung von Präcipitinen und des das Präcipitin erzeugenden Agens gearbeitet.

Besonders das letztere Kapitel fand durch Myers (19), Sacconaghi (20), Michaelis (21), Michaelis und Oppenheimer (22), sowie durch Rostoski (23) eingehende Bearbeitung. Ihre Versuche führten zu im grossen Ganzen übereinstimmenden Resultaten. Nur die Frage nach der Spezifität der Präcipitine für die einzelnen injizierten Eiweissfraktionen, sowie die, ob es möglich ist, durch Injektion von Peptonen ein Präcipitin zu bekommen, fanden noch geteilte Beurteilung. Myers (19) glaubte durch Einspritzen von Pepton Witte ein Präcipitin erhalten zu haben, das von den anderen Präcipitinen freilich in mancher Beziehung verschieden war (Thermolabilität, keine Biuretreaktion).

Buchner und Geret (24) prüften den Myer'schen Versuch nach und erhielten ebenfalls den Niederschlag, erkannten ihn aber bald als Bariumsulfat „herrührend von einem geringen Barytgehalt des Peptons und einem vermehrten Sulfatgehalt des Serums der vorbehandelten Tiere.“ Einen spezifischen Niederschlag erhielten die Autoren nicht.

Was Myers vergeblich versucht hatte, ist ein Jahr später Sacconaghi (20) gelungen. Seine Versuche ergaben, dass man auch mit den Produkten der gastrischen Verdauung, sogar mit den Peptonen, Präcipitine erzeugen kann. Wenn das verschiedenen Autoren nicht gelang, so liegt der Grund vielleicht in dem zum Versuch verwandten Eiweisskörper. Wir müssen annehmen, dass eine ganz bestimmte Atomgruppierung zur Erzeugung des Antistoffes intakt bleiben muss (präcipitogene Substanz Obermayer und Pick (25). Diese kann entweder ein Bestandteil der Eiweissmoleküle selbst sein, oder sie ist letzteren nur innig beigemischt, wie Obermayer und Pick annehmen."

Michaelis (21) suchte die Frage nach dem Wesen der präcipitablen Substanz dadurch zu lösen, dass er spezifisch fällbares Eiweiss verdaute und durch reziprokes Präcipitin zu fällen versuchte. Er bekam aber keine Fällung, selbst dann nicht, wenn in dem verdauten Serum noch reichlich coagulables Eiweiss vorhanden war. „Auch dieses Gemisch erwies sich nach der Neutralisation als nicht mehr fällbar durch Präcipitin." Daraus schloss er, dass der fällbare Eiweisskörper ausserordentlich leicht verdaulich sei.

Michaelis und Oppenheimer verdauten das zu fällende Serum auch tryptisch und bekamen bei 100 g Rinderserum plus 8 g Trypsin Grübler

nach 4 Tagen noch Fällung

nach 9 Tagen keine Fällung mehr.

Das Resultat ihrer Arbeit fassen sie folgendermassen zusammen: „Wir schliessen uns der Annahme an, dass das Präcipitin erzeugende Agens eine spezifisch bindende Gruppe des Eiweissmoleküls darstellt, die durch Pepsin leicht, vielleicht früher als der Eiweisskern zerstört wird; die dagegen gegen Trypsin

dieselbe Resistenz besitzt, wie überhaupt jedes genuine Eiweiss, unter Umständen vielleicht eine noch grössere."

Michaelis' Versuche mit Eierpepton und mit peptonum siccum Riedel Präcipitine gegen diese Peptone respektive ihr Muttereiweiss zu erzeugen, schlugen fehl, während er ein Albumin-Immunserum herstellen konnte, das sowohl auf Albumin wie auf sein Muttereiweiss präcipitirend wirkte.

Ähnlich diesen Untersuchungsergebnissen der Pepsin- und Trypsinverdauung von Präcipitin erzeugender Substanz sind die der Verdauungsversuche mit Präcipitinen selbst.

So fand Leblanc (26), dass die Präcipitine von der Pepsinverdauung vernichtet werden und Rostoski (16), konnte das bestätigen. Zugleich stellte er fest, dass sie der Trypsinverdauung wiederstehen.

Im gleichen Jahr kamen Michaelis und Oppenheimer (22) und Michaelis allein (21), die scheinbar die Notiz Rostoskis hierüber nicht kannten, zu denselben Resultaten. Zugleich stellten sie fest, dass es nicht die Salzsäure ihres künstlichen Magensaftes war, die die Präcipitine unwirksam machte, indem sie Immunserum mit Salzsäure allein und in einer Probe mit Trypsin allein zusammenbrachten und nachwiesen, dass in beiden Fällen die präcipitirende Kraft des Immunserums nicht abgenommen hatte. Ausserdem aber konstatirten sie, dass Trypsin bei Anwendung grosser Mengen und langer Zeitdauer (sie verdauten 0,5 ccm Antirinderserum vom Kaninchen mit 0,11 g Trypsin 72 Stunden lang!) die Präcipitine restlos verdauen.

Obermayer und Pick (25) wiederum fanden die Immunkörper von Trypsin unverdaulich und nahmen daher an, dass sie keine Eiweisskörper seien.

Da alle diese Versuche mit verschiedenen Seris, mit verschiedenen Pepsin-, bezw. Trypsinmengen, schliesslich auch über verschiedene Zeiten hin gemacht wurden und vor allem nicht genau quantitativ sind, so haben wir es für ratsam gefunden, die Untersuchungen nochmals, und zwar in der Weise anzustellen, wie wir es bei den Agglutininen getan haben, nämlich so, dass sie einen Vergleich gestatten zwischen der Pepsin- und Trypsinverdauung einerseits und der Einwirkung der Salzsäure andererseits.

Versuche.

Ein grosses Kaninchen, dem am 15., 20. und 26. Juni je 15 ccm Hühnerserum injiziert worden waren, wurde am 7. Juli durch Verblutenlassen getötet und dabei etwa 130 ccm Blut gewonnen; davon konnten ca. 80 ccm Serum abgenommen werden. Dieses Immunserum zeigte mit 2 ccm einer 2,5% Hühnerserumlösung, dem es in der Menge von 0,2 resp. 0,5 ccm zugesetzt wurde, einen Titer von 1 : 40 und hatte folgende Wirkung:

Tabelle I.

I.-S.	sofort	nach 10'	nach 15'	nach 30'	nach 45'	nach 1 h	nach 1½ h
0,2	—	—	schw. Trb.	Trübung	Flöckchen	Flocken	Bodensatz
0,5	—	schw. Trb.	Trübung	Flocken	Flocken	Bodensatz	Bodensatz

Um ganz sicher zu sein, dass die Zerstörung der Präcipitine durch die Verdauung, also vereinigte Salzsäure- und Pepsinwirkung geschieht, wurde zu den Verdauungsversuchen ein Magensaft hergestellt, der nur ½% Salzsäure enthielt. 10 ccm Immun-Serum

(I.-S.) wurden mit 10 ccm Magensaft vermischt und bei Bruttemperatur verdaut.

Nach $^1/_2$ Stunde, nach 1 Stunde und nach 2 Stunden wurden je einige Kubikzentimeter abgenommen, durch einige Tropfen verdünnter Soda neutralisirt, filtrirt und auf ihre Wirkung geprüft.

Tabelle II.

I.-S. $^1/_2$ h verd.	nach $^1/_2$ h	nach 1 h	nach $1^1/_2$ h	nach 2 h
0,4	Trübung	starke Trbg.	Flocken	ger. Bodens.
1,0	Flocken	Bodensatz	Bodensatz	Bodensatz

Tabelle III.

I.-S. 1 h verd.	nach $^1/_2$ h	nach 1 h	nach $1^1/_2$ h	nach 2 h
0,4	Trübung	Trübung	Flöckchen	Flocken
1,0	Flocken	beginn. B.-S.	Bodensatz	Bodensatz

Tabelle IV.

I.-S. 2 h vdt.	n. $1^1/_2$ h	nach 1 h	n. $1^1/_2$ h	nach 2 h	nach 16 h über Nacht
0,4	—	—	—	—	—
1,0	—	—	—	—	—

Da das Immunserum in den einzelnen Gemischen schon auf die Hälfte mit Magensaft verdünnt war, so wurde statt 0,2 und 0,5 jedesmal 0,4 und 1,0 ccm der Serum-Verdauungsmischung zum Anstellen der Präcipitinproben genommen.

Auffällig ist, dass nach 1 Stunde Verdauung die präcipitirende Kraft des Immunserums fast gar nicht geschädigt erscheint, während sie nach einer weiteren Stunde bereits völlig verschwunden ist. Es ist gerade so, als wenn der Magensaft, nachdem er das Molekül einmal angedaut hat, wozu er relativ lange Zeit braucht, dann leicht und schnell auch den Kern des Moleküls zerstören könnte.

Die Herstellung einer Kurve ist bei dem rapiden Abfall der Präcipitinwirkung sehr schwierig, ihr Resultat unsicher.

Hier ist zu bemerken, dass, wenn die Wirkung der Präcipitine verschwunden ist, von einer Aufhebung des coagulablen Eiweisses noch keine Rede sein kann. Ausserdem muss ich an dieser Stelle noch einer eigentümlichen Erscheinung gedenken, die ich im Verlauf meiner Versuche zufällig beobachtete. Tabelle V zeigt die präcipitirende Wirkung unseres I.-S.-Magensaftgemisches nach 19 stündiger Verdauung.

Tabelle V.

I.-S. 19 h verdaut	nach $1^1/_2$ h	nach 1 h	nach $1^1/_2$ h	nach 2 h	nach 16 h (üb. Nacht)
0,4	—	—	—	—	ger. Bodensatz
1,0	—	—	—	—	Bodensatz

Es wäre doch eigentlich ganz selbstverständlich, dass nach 19 Stunden Verdauung keine präcipitirende Kraft mehr auftreten kann, wenn sie schon nach 2 stündiger Digestion vollständig erloschen ist. Und doch haben wir hier die höchst auffällige Erscheinung (die ich übrigens 2 mal beobachtete) dass nach circa

16 Stunden Einwirkung des Gemisches auf Hühnerserum sich wieder ein Niederschlag bildet. Ob es sich hier überhaupt um eine spezifisch präcipitirende Wirkung handelt, oder um einen, aus irgend einem anderen Grunde zu stande gekommenen Niederschlag, vermag ich nicht zu sagen. Ich glaube aber, dass der Befund kein zufälliger ist, da ich ihn eben in einem zweiten Versuch in gleicher Weise erhielt.

Um auch die Wirkung der Trypsinverdauung auf die Präcipitine zu untersuchen, wurden einige Cubikcentimeter des I.-S. mit der gleichen Menge filtrirter leicht alkalisch gemachter 2% Trypsin (Pankreatin)-Lösung gemischt und zur Digerirung in den Brutschrank gestellt. Nach 1 Stunde, nach 2 Stunden, nach 4 Stunden und schliesslich nach 24 Stunden wurden Proben abgenommen und auf ihre präcipitirende Kraft geprüft. Die Tafeln VI—VIII stellen das Resultat dieser Proben dar.

Tabelle VI.

Trypsin 1 h	nach $^1/_2$ h	nach 1 h	nach $1^1/_2$ h	nach 2 h
0,4	Trübung	Trübung	starke Trbg.	Flocken
1,0	starke Trbg.	Flocken	Flocken senken sich	Bodensatz

Tabelle VII.

Trypsin 2 h	nach $^1/_2$ h	nach 1 h	nach $1^1/_2$ h	nach 2 h
0,4	Trübung	Trübung	starke Trbg.	Flocken
1,0	starke Trbg.	Flocken	Beginn. Bds.	Bodensatz

Tabelle VIII.

Trypsin 4 h	nach $^1/_2$ h	nach 1 h	nach $1^1/_2$ h	nach 2 h
0,4	Trübung	Trübung	starke Trbg.	Flocken
1,0	starke Trbg.	Flocken	Beginn. Bds.	Bodensatz

Tabelle IX.

Trypsin 24 h	nach $^1/_2$ h	nach 1 h	nach $1^1/_2$ h	nach 2 h
0,4	Trübung	Trübung	starke Trbg.	Flocken
1,0	starke Trbg.	Flocken	Beginn. Bds.	Bodensatz

Aus diesen 4 Proben geht hervor, dass die Präcipitine auch eine längerdauernde Einwirkung einer 2 % Trypsinlösung ohne Schaden ertragen können, ein Umstand, auf den Rostoski (16) schon aufmerksam gemacht hat. Dass sie schliesslich durch sehr lange Einwirkung sehr grosser Trypsinmengen doch zerstört werde, haben Michaelis und Oppenheimer (22) schon gezeigt.

In gleicher Weise wie bei den Agglutininen wurde auch bei den Präcipitinen die Wirkung von Papayotin, Säure und Lauge untersucht.

Der Papayotin-Versuch, zu dem 2,0 ccm Serum mit dem gleichen Volumen ganz schwach alkalisch gemachter 2 % Papayotinlösung gemischt wurde verlief, wie Tabelle X zeigt, völlig negativ.

Tabelle X.

Papayotin 6 h	nach $^1/_2$ h	nach 1 h	nach $1^1/_2$ h	nach 2 h
0,4	—	—	—	—
1,0	—	—	—	—

Papayotin zerstört demnach die Präcipitine schon innerhalb 6 Stunden vollständig, gleicht also hierin dem Pepsin.

Säure-Versuch.

Zunächst wurde geprüft, welchen Einfluss eine 1 stündige Einwirkung von Salzsäure auf die präcipitirende Kraft des Immunserums ausübt, und zu diesem Behufe wurden je 5 ccm I.-S mit der gleichen Menge einer $^1/_2$%, einer 1% und 2%, sowie einer 5% und 10% Salzsäure gemischt und bei Bruttemperatur aufgestellt und dann auf ihre Wirkung geprüft. Dabei zeigte sich:

Tabelle XI.

$^1/_2$ H Cl 1 h	nach 15'	nach $^1/_2$ h	nach 1 h	nach $1^1/_2$ h	nach 2 h
0,4	—	Trübung	Flöckchen	dicke Fl.	Bodensatz
1,0	Trübung	st. Trbg.	Flocken	Bodensatz	Bodensatz

Tabelle XII.

1% HCl 1 h	nach $^1/_2$ h	nach 1 h	nach $1^1/_2$ h	nach 2 h
0,4	Trübung	Trübung	Flocken	Bodensatz
1,0	starke Trübg.	Flöckchen	Bodensatz	Bodensatz

Tabelle XIII.

2% HCl 1 h	nach $^1/_2$ h	nach 1 h	nach $1^1/_2$ h	nach 2 h
0,4	Trübung	Trübung	Flöckchen	Bodensatz
1,0	starke Trübg.	Flöckchen	Bodensatz	Bodensatz

Tabelle XIV.

6% HCl 1 h	nach $^1/_2$ h	nach 1 h	nach $1^1/_2$ h	nach 2 h
0,4	—	ger. Trübung	Trübung	Trübung
1,0	—	Trübung	Trübung	Trübung

Tabelle XV.

10% HCl 1 h	nach $1^1/_2$ h	nach 1 h	nach $1^1/_2$ h	nach 2 h	nach 3 h
0,4	—	ger. Trbg.	Trübung	Trübung	Trübung
1,0	—	Trübung	Trübung	Trübung	Trübung

Man sieht also, dass Salzsäure in der Menge, die nötig ist, einen wirksamen Magensaft herzustellen — wie wir gesehen haben, genügten dazu in unserm Fall $^1/_2$% Salzsäure — die Präcipitine nicht nachweisbar angreift. In etwas stärkerer Konzentration ist aber die Salzsäure auf die präcipitirende Kraft des I.-S. unstreitig von nachteiliger Wirkung. Selbst nach 3stündiger Einwirkung eines $2^1/_2$% I.-S.-Salzsäuregemisches (I.-S. + 5% HCl zu gleichen Teilen) wurde die Trübung nicht stärker. Ebenso war es bei dem 5% Gemisch (I.-S. + 10% HCl); nur war hier die Trübung noch geringer.

Das I.-S.-Salzsäuregemisch wurde in jedem Fall neutralisirt und filtrirt, bevor es dem Hühnerserum zugesetzt wurde, um die Säurealbuminate zu entfernen, resp. deren neue Bildung zu verhindern.

Die geringe Verzögerung in der Wirkung, die in unseren Säureversuchen zu sehen ist, erklärt sich einfach dadurch, dass infolge der Neutralisation mit verdünnter Soda die Verdünnung eine etwas grössere geworden war.

Über den Prozentgehalt der Salzsäure gilt auch hier das vorn beim Agglutinin-Säure-Versuch darüber Gesagte.

Zu den Versuchen mit Lauge wurden 5 ccm I.-S. mit 5 ccm einer 2,5% Natronlauge versetzt und 1 Stunde auf Bruttemperatur erhalten.

Schon nach einer Stunde war, wie Tabelle XVI zeigt, kein Präcipitin mehr vorhanden.

Tabelle XVI.

NaOH $2^1/_2$% 1 h	nach $^1/_2$ h	nach 1 h	nach $1^1/_2$ h	nach 2 h
0,4	—	—	—	—
1,0	—	—	—	—

Ebenso vernichtete auch 1 % Natronlauge in 1 Stunde die präcipitirende Wirkung fast gänzlich.

Tabelle XVII.

Na OH 1 % 1 h	nach $^1/_2$ h	nach 1 h	nach $1^1/_2$ h	nach 2 h	nach 3 h
0,4	—	—	—	ger. Trbg.	ger. Trbg.
1,0	—	—	ger. Trbg.	Trübung	Trübung

Es ist möglich, dass die Präcipitine in dem massigen Niederschlag, der beim Neutralisiren dieser alkalischen Gemische auftrat, enthalten waren und mit abfiltrirt wurden. Ich möchte daher auch nicht mit Sicherheit behaupten, dass die geringe Trübung, die sich im letzten Versuch nach $1^1/_2$ Stunden einzustellen anfing, durch Präcipitation veranlasst worden sei.

Zum Schluss möchte ich noch einmal die Ergebnisse meiner Versuche der besseren Übersicht halber nebeneinanderstellen:

Es ist unzweifelhaft, dass ein gewisser Parallelismus zwischen der Verdauung der Präcipitine und Agglutinine und der der Eiweissstoffe des Serums besteht.

Trypsin, welches das Serum nicht angreift, schädigt auch die Antikörper nicht in erheblichem Masse, Pepsin, das das Serum verdaut, zerstört auch die Antikörprr.

Alkalische Papayotinlösung steht in seiner Wirkung zwischen dem Pepsin und Trypsin: Die Antikörper werden zwar zer-

stört, aber die Vernichtung geht langsamer von statten wie durch Pepsinverdauung. In dem raschen Abfall der Verdauungskurve am Anfang besteht eine Ähnlichkeit mit dem Abfall bei der gastrischen Verdauung, in dem späteren allmählichen Abnehmen ist eine Analogie zur Trypsinverdauung zu erblicken.

Laugen wirken schon in relativ geringer Koncentration vernichtend, während Säuren in mässiger Koncentration die Antikörper nicht wesentlich schädigen.

Es ist also die Wirkung des Pepsins resp. Trypsins (im II. Versuch) welche die Antikörper zerstört, während Säure und Lauge in den Verdünnungen, in welchen sie zu den Verdauungsversuchen verwendet werden müssen, keinen Effekt hervorrufen.

Was endlich das Verhältnis von Agglutininen und Präcipitinen zu einander anlangt, so habe ich gefunden, dass die Präcipitine gegen Fermente und Säure viel weniger resistent sind als die Agglutinine, während die Widerstandskraft gegen Alkalien in beiden Fällen eine gleich geringe ist.

Bei den Agglutininen fällt die Kurve der Trypsinverdauung langsam und gleichmässig ab, während die der Pepsinverdauung zuerst steil ist, dann plötzlich fast horizontal wird, um sich schliesslich mit mässiger gleichbleibender Geschwindigkeit der Nullinie zu nähern.

Für die Präcipitine eine Kurve zu zeichnen, war bei unserer Versuchsanordnung nicht möglich, da die

Präcipitation durch die Pepsinverdauung ohne vorhergehende nennenswerte Abnahme fast plötzlich verschwand, während bei der Trypsinverdauung gar keine Titerabnahme zu konstatieren war.

Herrn Geheimrat Prof. Dr. W. v. Leube, Direktor der Mediz. Universitätsklinik, in deren Laboratorium die Arbeit ausgeführt wurde, möchte ich auch an dieser Stelle meinen Dank für die gütige Überlassung des Themas und die Übernahme des Referates aussprechen.

Ganz besonders danke ich aber Herrn Privatdozenten Dr. Rostoski, dem Vorstand des Laboratoriums, für seine freundliche Unterstützung, die er mir sowohl bei der Ausführung der Versuche als auch bei der Auswahl der Literatur angedeihen liess.

Literatur.

1. Asakawa, „Über das Wesen der Agglutination und eine neue Methode, die Agglutination schnell zu beobachten (Gefriermethode).“ Saikingakn Zasshi 1901 Nr. 70 und Zeitschrift für Hygiene 1903 Bd. 45.
2. E. Pick, „Zur Kenntnis der Immunkörper.“ Hofmeisters Beiträge zur chem. Physiologie und Pathologie 1901.
3. Emmerich und Tsuboi, Verhandlungen des 11. Kongresses für innere Medizin. Leipzig 1892 und Emmerich und Steinmetz, Löw, Centralblatt für Bakterien- und Parasitenkunde Bd. XII 1892 Nr. 11/12.
4. Pfeiffer und Proskauer, Centralblatt für Bakteriologie etc. 1896 pag. 191.
5. A. Wolff, „Über den Gehalt der einzelnen Eiweissfraktionen des Serums (Globuline, Euglobuline, Albumine etc.) an Choleraimmunkörpern.“ Centralblatt für Bakteriologie etc. I. Abt. Originale Bd. XXXlll. Nr. 9.
6. Fuhrmann, „Über Präcipitine und Lysine.“ Hofmeisters Beiträge zur chem. Physiologie und Pathologie lll. 1903. pag. 417. (Sonder-Abdruck).
7. Funk, „Über die medikamentöse Beeinflussung der Bildung von Antikörpern und über die Bindung der Präcipitine an das Serumeiweiss.“ (Inaugural-Dissertation aus der mediz. Klinik der Universität Würzburg 1905.)
8. H. Buchner, Münchner mediz. Wochenschrift 1894.
9. Dzierzgowski, „Die Beziehungen der Verdauungsfermente zum Antidiphtherieserum und das Schicksal der letzteren im Magendarmkanal.“ Archives des sciences biologiques russes 1899 pag. 337.
10. E. Pick, „Zur Kenntnis der Immunkörper.“ Hofmeisters Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol. l. Bd. 1902. 10—12 Hft.
11. Paltauf, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann 1904. 21—25 Lfg. pag. 735. Abschnitt Xll. Agglutinine.

12. Winterberg, „Untersuchungen über das Typhus-Agglutinin“ Zeitschrift für Hygiene 1899 Bd. 32.
13. Salkowsky, „Praktikum der physiolog u. patholog. Chemie“ 2. Auflage. pag. 112.
14. Hoppe-Seyler's, „Handbuch der physiol. u. pathol. chem. Analyse für Ärzte und Studirende 7. Aufl. 1903, bearbeitet von Thierfelder pag. 320 et sequ.
15. Nicolle, „Sur la substance agglutinée“, Annales Pasteur 1898 A. 12. pag. 161.
16. Rostoski, „Zur Kenntnis der Präcipitine.“ Habilitationsschrift 1902. Stubers Verlag, Würzburg.
17. Oppenheimer u. Aron, „Über das Verhalten des genuinen Serums gegen tryptische Verdauung.“ Hofmeisters Beiträge zur chem. Physiol. u. Pathol. 1903. Bd. IV. Heft 7/8. (Sonderabdruck.)
18. Gürber und Ring, „Einfluss der Verdauung auf das Drehungsvermögen von Serumglobulinlösung“ Verhandl. der phys. med. Gesellschaft Würzburg, Neue Folge Bd. XXXV.
19. Myers, Centralblatt f. Bakteriologie 1900 u. Lancet July 1900.
20. Sacconaghi, Über die Präcipitine der Verdauungsprodukte.“ Zeitschrift f. klin. Medizin Bd. 51 Heft 3 u. 4 1902. (Sonderabdruck.)
21. Michaelis, „Untersuchungen über Eiweisspräcipitine.“ Deutsche med. Wochenschrift 1902 Nr. 41 pag. 733 u. d. ff.
22. Michaelis und Oppenheimer, „Über Immunität gegen Eiweisskörper.“ Archiv für Anatomie und Pysiologie (Physiologische Abteilg.) 1902. Supplement. pag. 352 Sonderabdruck.
23. Rostoski, „Über den Werth der Präcipitinreaktion als Unterscheidungsmittel für Eiweisskörper.“ Münchner med. Wochenschrift 1902. Nr. 18.
24. Buchner u. Geret, Münchn. med. Wochenschrift 1902. Nr. 7.
25. Obermayer und Pick, „Biologisch chem. Studie über das Eiklar.“ Wiener klin. Rundschau 1902. Nr. 15.
26. Leblanc, „Contribution à l'étude de l'immunité aquise.“ La cellule A. XVIII. 2d fascicule 31. Mai 1901.

Lebenslauf.

Ich, Ernst Stark, bayr. Staatsangehörigkeit, bin geboren als Sohn des damaligen technischen Revisors an der Kgl. Kreisregierung zu Regensburg am 15. Juni 1881 in Regensburg. Nach Besuch der Volksschule in Velburg, wohin mein Vater im Jahre 1887 als Bezirksgeometer versetzt worden war, bezog ich im Jahre 1891 das alte Gymnasium zu Regensburg, das ich im Juli 1900 absolvirte. Im Herbst des gleichen Jahres inskribirte ich mich an der Universität Würzburg als Mediziner. Im Jahre 1902 trat ich als Einjähriger in die 1. Komp. des 9. Inf.-Regiments zu Würzburg ein; zu Ostern 1903 wurde ich als Sanitätsgefreiter entlassen. Das Wintersemester 1903/04 brachte ich an der Universität Berlin zu, kehrte aber im Sommer 1904 wieder nach Würzburg zurück. Vom 8. März 1905 ab unterzog ich mich hier der Staatsprüfung, um dieselbe am 14. Juni 1905 zu vollenden.

Vorstehende Dissertation habe ich unter Leitung von Herrn Geh. Rat Prof. v. Leube und Privatdozenten Dr. Rostoski verfasst.